

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表 号

特表平6-510031

第3部門第2区分

(43)公表日 平成6年(1994)11月10日

| (51)Int.Cl. ⁸ | 識別記号 | 庁内整理番号 | F I |
|--------------------------|------|---------|-----|
| A 6 1 K 37/02 | | 8314-4C | |
| 37/24 | | 8314-4C | |
| 47/10 | K | 7433-4C | |
| 47/14 | K | 7433-4C | |
| 47/18 | K | 7433-4C | |

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 10 頁)

| | |
|--------------|--|
| (21)出願番号 | 特願平5-504072 |
| (86) (22)出願日 | 平成4年(1992)8月10日 |
| (85)翻訳文提出日 | 平成6年(1994)2月15日 |
| (86)国際出願番号 | PCT/EP92/01822 |
| (87)国際公開番号 | WO93/03744 |
| (87)国際公開日 | 平成5年(1993)3月4日 |
| (31)優先権主張番号 | P4126983.7 |
| (32)優先日 | 1991年8月15日 |
| (33)優先権主張国 | ドイツ (DE) |
| (81)指定国 | EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, M C, NL, SE), AU, BG, BR, CA, CS, F I, HU, JP, KR, NO, PL, RO, RU, US |

| | |
|---------|--|
| (71)出願人 | ベーリンガー マンハイム ゲーエムベー ハー ドイツ連邦共和国 ディー-68298 マン ハイム サンドホファーシュトラッセ 116 |
| (72)発明者 | ヴォーク, ハインリッヒ ドイツ連邦共和国 ディー-6947 ラオデ ンバッハ リンデンシュトラッセ 6 |
| (72)発明者 | グルバー, ヴェルナー ドイツ連邦共和国 ディー-6943 ビルケ ノー リーダッカーヴェーク 2 |
| (74)代理人 | 弁理士 平木 祐輔 (外2名) |

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ヒトタンパク質を含有する注入用又は注射用医薬製剤の製造方法

(57)【要約】

本発明は、十分に許容性のある保存処理された、ヒトタンパク質を含有する注射又は注入溶液の製造方法に関する。

請求の範囲

1. 注射又は注入溶液として使用するためのヒトタンパク質を含有する保存処理された医薬製剤の製造方法であって、該医薬製剤の製造中に少なくとも1種の保存剤を2%までの濃度で添加し、所望により除去してもよい方法。
2. 保存剤が、クロロブタノール、ベンジルアルコール、塩化ベンザルコニウム及びこれら物質の組み合わせの群から選ばれる、請求項1記載の方法。
3. 低いアレルギー率を有する保存剤であって、貯蔵可能な医薬製剤中に残存するものを添加する、請求項1記載の方法。
4. 複数回投薬製剤を製造するための請求項3記載の方法。
5. 該医薬製剤の製造の過程で添加した保存剤を、貯蔵可能な医薬製剤を製造する前に除去する、請求項1記載の方法。
6. 除去可能な保存剤が、クロロブタノール、ベンジルアルコール、p-クロロ-m-クレゾール、ピロ炭酸ジアルキル又はこれら物質の組み合わせの群から選ばれる、請求項5記載の方法。
7. 保存剤とヒトタンパク質との間の接触が短時間である、請求項5又は6記載の方法。
8. ヒトタンパク質としてEPO又はG-CSFを用いる、請求項1～7のいずれか1項に記載の方法。
9. 保存剤を約0.1～約0.3%の濃度で用いる、請求項1～8のいずれか1項に記載の方法。
10. 即投与可能な医薬製剤のpH値が約2.0～約7.4である、請求項1～9のいずれか1項に記載の方法。

明細書

ヒトタンパク質を含有する注入用又は注射用医薬製剤の製造方法

本発明は、十分に許容される形態にある、注入又は注射溶液として使用するためのヒトタンパク質を含有する医薬製剤の製造方法に関する。

本発明の意味においては、ヒトタンパク質は、例えば、E-P-A (組織プラスミノゲン活性化因子)、G-CSF (顆粒球コロニー刺激因子)、ストレプトキナーゼ、ウロキナーゼ、インターフェロン又はEPO (エритроポエチン) 及び薬学的特性が概して類似しているか又は匹敵するそれらの組換え的に生産した誘導体の如き治療目的に使用される少量しか存在しない内因性タンパク質である。

アミノ酸の添加によって既知の投与形態と比較してより良好な生物学的利用能を有しかつ十分に許容される皮下又は筋肉内投与用のヒトタンパク質含有医薬製剤が、ヨーロッパ特許出願 B P 0 430 200 に記載されている。

中でも尿素及び種々のアミノ酸を含有する、安定化されたヒトタンパク質含有医薬製剤が B P 0 308 824 より既知であり、そこでは特にEPO及びG-CSFがヒトタンパク質の例として挙げられている。

更に、B P 0 458 153 には、6～8のpH値を有し安定化用に専らリン酸アルカリ金属又はハロゲン化アルカリ金属を含有する皮下又は筋肉内投与用の注射製剤を製造するためのEPOのガレン水性製剤が記載されている。

11. 医薬製剤の緩衝能を10mVal/lまでの値に調節する、請求項1～10のいずれか1項に記載の方法。
12. 即投与可能な医薬製剤の凝固温度を15mVal/lまでの値に調節する、請求項1～11のいずれか1項に記載の方法。
13. グリココール；クエン酸ナトリウム；リン酸アルカリ；炭酸アルカリ；アミノ酸の塩；リンゴ酸、マレイン酸、フマル酸、酒石酸、アスパラギン酸のアルカリ塩；又はこれら物質の組み合わせの群からの十分に許容性のある緩衝物質を添加する、請求項1～12のいずれか1項に記載の方法。
14. 十分に許容性のある保存剤を0.01～2%の濃度で含有する、静脈内又は皮下投与のためのヒトタンパク質を含有する医薬製剤。
15. 保存剤が、クロロブタノール、ベンジルアルコール、塩化ベンザルコニウムであるか又はこれら物質の組み合わせからなる、請求項14記載のヒトタンパク質を含有する医薬製剤。
16. 十分に許容性のある注射又は注入溶液の製造のための、請求項1～13記載の方法で製造されたヒトタンパク質を含有する医薬製剤の使用。

遺伝子工学による上記ヒトタンパク質の製造は、例えば、次の特許出願から既知である。即ち、遺伝子工学によりr h-EPO (組換えヒトエритроポエチン) を製造する方法が P C T 出願 W 0 85/02810及び W 0 86/03520に記載されている。更に、エритроポエチン様作用を有するポリペプチドの製造が B P 0 409 113 ; B P 0 357 804 ; W 0 86/02100及び W 0 91/05887に記載されている。更に、他の組換えタンパク質を製造する方法が先行技術より既知であり、例えば、プラスミノゲン活性化因子様作用を有するポリペプチドを製造する方法が W 0 90/09437 ; B P 0 227 482 ; B P 0 400 545 又は B P 0 440 763 より既知である。G-CSF様作用を有するポリペプチドの製造は、例えば、B P 91 107 42 9.2 及び P C T/B P 91/00192より既知である。

EPOは、骨髓内でのヘモグロビン及び赤血球の形成を刺激する糖タンパク質である。この糖タンパク質は主として腎臓内で形成され、血清中に非常に少量だけ存在し、生理的条件下で尿中に排泄される。

しかしながら、異なる製造業者からのヒトタンパク質含有注射又は注入溶液は、ガレン製剤における異なる組成のために又は該タンパク質のアミノ酸配列若しくはグリコシル化パターンに関する該活性物質の僅かな構造的差異のために別様に許容されたということが確認されている。先行技術より既知の溶液は大きな問題なしに十分に許容される筈の本質的に等張性の溶液であるが、それらを投与したときに好ましくない副作用が認められた。例えば、EPO含有注射溶液を投与すると、患者が投与中及び投与後に起こる注射部位における痛みを訴えることが多い。使用する網々の

ガレン製剤に依存して、ヒト血清アルブミン及び安定化用添加剤としてクエン酸緩衝剤を含有する注射溶液を使用したときに、焼けるような痛みが多くの患者に頻りに起こった。場合によっては、患者は、高温、高血圧、痙攣、背脊痛、悪心及びショックをも呈した。

更に、比較的低含有量の活性物質を有する注射溶液は適切に安定化され得ないということが分かった。かくして、例えば、ヒトタンパク質としてBPOを例えば500~20,000Uの量で含有する医薬製剤は十分安定ではない。幾らかのガレン製剤は、特に長期間貯蔵した場合に望ましくないヒトタンパク質の集合物(aggregate)又は凝集物(agglomerate)を形成し易いということを示すことができた。その結果として、かかる製剤を使用する場合には、免疫学的問題が浮上し得る。

先行技術より既知の従来のヒトタンパク質含有医薬製剤は、いわゆる一回投薬製剤(single-dose formulation)又は一回投薬容器(single-dose container)の形で一般に一回投与用に用いられるので、普通は保存剤を含有しない製剤である。対照的に、いわゆる複数回投薬ユニット(multi-dose unit)又は複数回投薬容器(multi-dose containers)は、あらゆる望ましい分量の活性物質の複数回投与に適している。そのために、かかる投与形態の安定性及び貯蔵性に関して、特に該溶液の無菌性に関して特別な要求がなされる。このことを理由として、即投与可能なように調製された注射又は注入溶液内での微生物の成長を阻止するために、かかる溶液に保存剤が使われている。

しかしながら、保存処理されたヒトタンパク質含有医薬製剤の

製造は難しいことが証明されている。保存剤を使用すると、該医薬製剤を長期間貯蔵した場合にこれらが安定性の問題を起こすことが分かってきた。この過程でヒトタンパク質は不活性化となり、注射溶液への不許容性が認められる原因になり得る凝集物を形成する。保存処理された注入用又は注射用医薬製剤のこの種の製造方法は、活性ヒトタンパク質成分の場合には、121℃で20分間のオートクレーブ中での無菌化条件下で該活性物質が不活性化し、それらの構造が破壊されるので用いることができない。また、医学分野において用いられる通常の保存剤は活性ヒトタンパク質成分と反応してこれらが不活性化することも知られている。このことを理由として、従来、静脈内又は皮下用製剤は、この場合に使用されていた保存剤を用いることなしに無菌条件下で一回投薬製剤として製造された。

かくして、上記の欠点を有さない医薬製剤を製造することのできる、注射又は注入用の保存処理されたヒトタンパク質含有医薬製剤の製造方法を見出すという課題が生じたのである。このようにして製造したこれら医薬製剤を、できるだけ痛みのない投与を確実に行いつつ無菌であるような再現性ある十分に許容できるやり方で投与することは可能な筈である。更に、無菌でありかつ良好な許容性で投与され得る複数回投薬投与形態(複数回投薬容器)が提供されるべきである。

本発明の目的は、注射用又は注入用のヒトタンパク質含有医薬製剤の製造方法において、2%(容量%に対する重量%, W/V)まで、特に0.01~1%又は0.1~0.3%の濃度で保存剤を添加し、所望により貯蔵可能な医薬製剤の製造前にこれらを除去する

ことにより達成される。非常に低いアレルギー率を有する保存剤を選択することによって、貯蔵可能な医薬製剤中にかかる保存剤を残留させることも更に可能であり、選択的な除去が絶対に必要であるとは限らない。

このようにして製造した医薬製剤は保存処理されている。即ち、それらは保存剤を含有しているか又はそれらを製造している間の少なくとも一部の時間保存剤が存在していた。殺菌作用を有する全ての物質を保存処理に用いることができる。用いた保存剤は、充填中に製剤に入り込んだ微生物の成長を阻害するか又はそれらを殺しもする。

本発明による方法においては、貯蔵可能な医薬製剤の製造の最終工程のうちの1工程において容易に除去することのできる保存剤を使用するとき特に有利である。このことは、投与可能な医薬製剤が許容性に影響するあらゆる保存剤を含まないという利点を有している。このために特に有利な揮発性保存剤には、クロロトン(クロロブタノール、1,1,1-トリクロロ-2-メチル-2-プロパノール)、ベンジルアルコール、p-クロロ-m-クレゾール及び一般式R-O-CO-O-CO-O-R(式中、RはC₁~C₈アルキル基、特にメチル、エチル、プロピル又はtert-ブチルである)のピロ炭酸ジアルキルエステルが含まれる。

しかしながら、保存剤を一緒に投与する場合でさえ、許容性に関する作用を最小限にすることができる。同じ保存作用を有する異なる保存剤が異なるアレルギー率を有するということが確認されているのであるから、該物質を適切に選ぶことにより許容性を向上させることができる。低いアレルギー率を有する保存剤は、

特にクロロブタノール、ベンジルアルコール及び塩化ベンザルコニウムである。塩化ベンザルコニウムは、一般式(H₃C-CH₂-N⁺(CH₃)₃)Cl(式中、Rはアルキル基C₁H₁~C₁₀H₂₁を表す)の塩化アルキルベンジルジメチルアンモニウム型の4級アンモニウム化合物(クォーツ)、例えば、塩化ベンゾドデシニウム又は塩化セタルコニウムの鹽化合物を表す(キルク-オスマー(Kirk-Othmer)2: 633 ff; 19: 562 ffを参照)。

更に、これら保存剤は、溶液中に存在するヒトタンパク質を不活性化しないという利点を有している。保存剤の濃度をできるだけ低くすることによって許容性も向上させることができる。とりわけ、医薬溶液中の個々の保存剤の含有量は、10mg/mlの値を越えるべきではない。5mg/mlまでの保存剤を該医薬溶液に用いるのが好ましい。

いろいろな手段により必要な濃度を最小限にすることができる。例えば、できるだけ大きな程度まで保存剤によるヒトタンパク質の不活性化を防ぐことにより最小限にすることができる。これは、注射溶液の安定性が増すという更なる利点を有する。該不活性化は、低反応性の点から保存剤を選択することによって防ぐことができる。該不活性化は、ヒトタンパク質と保存剤との間の接触ができるだけ短時間である場合に更に低くなる。溶液中の保存剤の必要濃度も、溶液が接触する材料、例えば、ゴムへの吸収を防ぐことによって低くすることができる。

用いる保存剤の種類は、許容性に重要な役割を果たす。全ての保存剤は多かれ少なかれアレルギー率を有している。しかしながら、微生物がいないことを保証するためには、それらの使用をさ

けることが常に可能であるとは限らない。本特許出願の基礎となつた研究によれば、最大限に微生物がいないようにするのみならず保存剤の副作用も殆ど完全に排除するような方法で、注射溶液の製造において保存剤を使用することは可能である。

添加した保存剤が多かれ少なかれヒトタンパク質と反応してそれらを不活性化するという事実にも拘らず、多くの場合において、保存剤の添加を完全に省略することは可能ではない。というのは、例えば、充填工程の間に微生物は溶液に入るおそれがあり、又、複数回投薬容器中で無菌の凍結乾燥体から注射溶液を調製した場合にはこれを完全に使い終わるまで微生物から保護しなければならないからである。

凍結乾燥の間に菌発するか又は昇華するような保存剤を選択した場合には、保存剤の添加は該製剤の製造において問題にならない。適当な菌発性を有する保存剤は、例えば、クロレトン及びベンジルアルコールである。

本発明の方法の一態様によれば、ヒトタンパク質を必要な補助剤と共に水中に溶解させ、必要量の保存剤（最大8%まで）を添加し、そして、必要に応じて、問題のヒトタンパク質が安定性に関して耐えることができず不活性化されることのない温度に加熱する。溶液が実質的に無菌になるまで長時間、即ち、約4時間まで、好ましくは10分〜2時間保存剤を効かせる。その後、活性物質の該溶液をビンに小分けして凍結乾燥する。一般に、保存剤は凍結乾燥の間に昇華又は蒸発する。このようにして得られた凍結乾燥体は、通常の溶液で戻すと無菌の注入又は注射用溶液になる。

ヒトタンパク質注射溶液の良好な許容性は、とりわけpH値、

緩衝能、測定酸度及び該溶液中に存在する緩衝物質の適切な選択によって影響を受ける。

ヒトタンパク質はアルカリ域では安定でないで、該溶液のpH値の上限は実質的に中和点（血漿のpH値は7.2〜7.4である）を越えるべきではない。静脈内投与用には、該溶液は約4.5〜7.4のpH値を有するのが好ましい。約6〜7.4のpH値を有する溶液は皮下投与に好ましい。静脈内では、血液及び血液中に存在する緩衝物質の静脈内流入のために、生理的pH条件への調節が皮下で起こるよりもより速やかにできるので、静脈内投与と皮下投与とは異なる。皮下及び静脈内投与の場合における該調節速度も最低限の緩衝能及びできるだけ低い測定酸度により上昇し得るので、該溶液のpH値の許容できる最低値もこれらパラメーターに依存する。この場合、即投与可能な溶液の緩衝能は0〜10 mVal/lであり、測定酸度は0〜20 mVal/lである。特に、即投与可能な溶液の緩衝能は6 mVal/lを越えるべきではなく、測定酸度は10 mVal/lを越えるべきではない。

緩衝能は、一般に、1 l容量の溶液のpH値を1 pH単位だけ変化させるのに必要な酸又はアルカリの当量 (Val) として定義される。1塩基酸又は塩基を滴定に使用した場合には、該使用した酸又は塩基についての規格 Val/l (specification Val/l) はこの酸のモル量、つまりモル/lに対応する。本発明の場合には、使用する溶液は酸性域のpH値を有しているので、その緩衝能は、1 l容量の溶液のpH値を1 pH単位だけ上昇させるのに必要な、例えば0.1規定NaOH溶液の量として択一的に定義することができる。ヒトタンパク質含有医薬溶液は、緩衝能の測定の間、適

常用いられている医薬用の補助物質及びビヒクルを含有している。

ヒトタンパク質含有医薬製剤の緩衝能の測定は、活性物質自体に加えて実際の医薬品製造に慣用されている補助物質及び添加剤を含有する即投与可能な注射又は注入溶液に関して行う。一般に、該溶液はタンパク質の安定化のために酸性pH値を有している。該溶液のpH値を1 pH単位だけ上昇させるのに必要な塩基の相当量は、塩基で測定することによって測定する。

静脈内投与用の注入又は注射溶液における緩衝能についての好ましい範囲は、0.1規定水酸化ナトリウム溶液2.4 mlまで、好ましくは0.5 mlまでである。これは、0.24ミリモル又は0.05ミリモルのアルカリの量に相当する。皮下投与については、0.1規定NaOH溶液1 mlまで、特に0.1規定NaOH溶液0.2 mlまでを用いるのが好ましい。これは、0.1ミリモルまで又は0.02ミリモルまでのアルカリの量に相当する。

更に、即投与可能な注射又は注入溶液ができるだけ低い測定酸度、つまり5 mVal/lまでの測定酸度を有する場合が有利であることが分かった。

静脈内投与用の注入又は注射溶液の測定酸度についての好ましい範囲は、0.1規定NaOH溶液10 mlまで、好ましくは5 ml、3 ml又は1 mlまでである。これは、1ミリモル/lまで又は0.3ミリモル/l又は0.1ミリモル/lまでの測定酸度に相当する。皮下投与については、0.1規定NaOH溶液5 mlまで、特に2 mlまで又は0.5 mlまでを使用するのが好ましい。この場合、測定酸度は0.5ミリモル/l又は0.2ミリモル/l又は0.05ミリモル/lまでである。

測定酸度又は塩基度は、一般に、1 l容量の溶液のpH値を血液のpH値（約7.2〜7.4）に調節するのに必要なアルカリ又は酸の量として定義される。本発明の場合には、1 lの溶液のpH値を血液のpH値（約7.3）に上昇させるのに必要な、例えば0.1規定NaOH溶液の量として択一的に定義することができる。ヒトタンパク質含有医薬溶液は、緩衝能の測定の間、通常の医薬用の補助物質及び添加剤を含有している。測定酸度の測定方法は、即投与可能な注射又は注入溶液で始めて、該溶液のpH値を約7に調節するのに必要な塩基の量を測定することにより、緩衝能の測定方法と類似の方法で行われる。

注入又は注射溶液に適用可能なpH域及び実質的に痛みを伴わないで投与することのできるpH域は、用いる個々のヒトタンパク質に依存して酸性又は中性域である。該注入又は注射溶液は約2〜7.4のpH値を有する。該溶液は好ましくは約3.8〜7.4のpH値で使用され、それによってpH値4.5〜6.0、好ましくは5.5〜6.0がより低い範囲と特に考慮される。該溶液のpH値は、好ましくは、血液のpH値に近いpH域を上限として用いられる。6〜7.4、特に6.8〜7.2のpH値を有する溶液は、好ましくは静脈内投与に用いる。6.5〜7.2、特に7.0〜7.2のpH値を有する溶液は、好ましくは皮下投与に用いる。

ヒトタンパク質の天然存在型に加えて、適当な突然変異タンパク質も使用できる。“突然変異タンパク質”という用語は、そのアミノ酸配列が少なくとも1アミノ酸だけその天然配列と相違しているタンパク質として一般に理解されている。これら相違は、例えば、天然配列における1又は2以上、好ましくは1〜10の

アミノ酸が他のアミノ酸によって置換されているもの、又は1又は2以上のアミノ酸がN-又はC-末端に付加しているか若しくは脱落しているものであってもよい。これをN-若しくはC-末端延長又はN-若しくはC-末端欠失という。上記の起こり得る変異は、所望により相互に組み合わせられてもよい。即ち、天然配列のN-末端が例えば延長される一方で、同時にそのC-末端が短縮されてもよく、所望により、同時に1又は2以上のアミノ酸が他のアミノ酸により置換されていてもよい。特に指摘すべきことは、このようにして得られた断片は、天然のヒトタンパク質と実質的に同じ基本的治療特性と作用を有さなければならないことである。

一般に“組換え体”という用語は、組換えDNA技術を用いて産生するヒトタンパク質のことを言う。これら方法は、特定のヒトタンパク質をコードする遺伝子のクローニング、例えば細菌性プラスミドの如き適当なベクターへの適当なcDNA又はゲノミックDNAの挿入、及び適当な宿主細胞へのこれら組換えプラスミドの形質転換を包含する。次いで、クローン化した遺伝子を宿主細胞内で発現させて対応するヒトタンパク質を既知の方法で単離する。

液体医薬製剤又は凍結乾燥した医薬製剤も、所望により、安定剤又は有機親水性ポリマーの如き通常の医薬補助物質を含有してもよい。例えば、約10,000~2,000,000の分子量を有するスクロース、テトラロース、ラクトース、デキストランの如きオリゴ糖は安定剤として適している。有機親水性ポリマーは、親水性モノマー単位から構成される炭素主鎖を有し、所望により、

い値に調節するのに必要な量のアルカリを既に含有していてもよい。加えて、通常の等張添加剤も用いることができる。一方、該凍結乾燥体は、戻しを注射用薬留水で本質的に行えるような有利なpH域に設定するのに必要な量の塩基性試薬を全体的に又は部分的に含有してもよい。更に、該凍結乾燥体並びに戻し溶液は、確実な等張溶液を生成させる物質を含有してもよい。

次いで、戻し溶液を注射器に吸い上げて患者に直接投与することができる。いわゆる一回投薬製剤は、例えば、500~20,000 U、好ましくは1,000、2,000、5,000、10,000又は15,000 Uの量のr h-EPOを含有する。比例的に増量したヒトタンパク質を使用する場合には、複数回投薬製剤を製造することも可能である。この場合、より大きな容量(約5~10 ml)の戻し溶液を使用し、次いでこの溶液を用いて数回投与する。この場合、投与されるヒトタンパク質の量は個別に医師が決めてもよく、また、異なる患者に複数回投与するために使用してもよい。

注射又は注入溶液の製造に使用するEPOの比活性は、好ましくは280 nmにおける吸光単位当たり約160,000 IUである(EP 0 208 538を参照)。

ヒトタンパク質含有注射溶液は、活性物質に加えて、先に上げた安定剤、緩衝剤の他に、水に溶解させた錯生成剤及び阻害剤を含む通常の補助物質を含有する。緩衝剤は約1~約100ミリモル/lの濃度で使用される。該溶液の使用可能なpH域は、静脈内投与の場合は約4.5~約7.4であり、皮下投与の場合は約6.0~約7.4である。上限は血液のpH域(7.2~7.4)である。ヒ

ポリエチレングリコール又はポリビニルピロリドンの如き極性側基を有する高分子である。

該医薬製剤は、リン酸アルカリ(リン酸ナトリウム又はカリウム又はそれらの水素又は2水素塩)、有機若しくは無機酸の塩又はアミノ酸の如き通常の医薬緩衝剤を更に含有する。該製剤中における種々の緩衝物質の組成は、即投与可能な注射又は注入溶液の緩衝能ができるだけ低くなるように選ぶ。これは、できるだけ少量の緩衝物質を使用することによって達成することができ、そうするには緩衝剤の総量は該医薬溶液中で特に100ミリモル/lの濃度を越えるべきではない。緩衝物質は、好ましくは10~100ミリモル/l、特に20~60ミリモル/lの濃度で用いる。また、個々の緩衝物質を、主として酸又は塩基緩衝域におけるそれらの作用をお互いに補うように選択することも可能である。この場合、緩衝物質の総量は、最終の投与可能な医薬製剤中において200ミリモル/lまでであってもよい。

凍結乾燥医薬製剤は、好ましくは更に、水溶液が凍結するとき結晶マトリックスを形成し、また、その後の凍結乾燥の間及び種々の外部条件下で長期間該凍結乾燥体を貯蔵する間も構造的な安定性を維持する構造形成剤を含有する。この意味において、適当な構造形成剤としてマンニトール及びグリシンが考慮される。

このようにして製造した医薬製剤は好ましくは凍結乾燥体の形で販売される。それらを一回投薬製剤として使用してもよく、その場合、特定量のヒトタンパク質が注射ビン、アンプル又はカプセル内に入っており、適当量の戻し溶液を加えることによって凍結乾燥体を溶解する。該戻し溶液は、注射溶液のpH値を望まし

トタンパク質は通常アルカリ性域で安定ではないので、より高いpH値は避けるべきである。

以下に実施例に基づいて本発明を詳細に説明する。それぞれの場合において、活性物質としてr h-EPO及びG-CSFをヒトタンパク質の種類の代表として使用する。しかしながら、他のヒトタンパク質も同じようにして使用することができる。

本発明で使用するのことができる注射溶液を製造するために、攪拌器を装備した無菌V2A二重ジャケットタンク内で補助物質を水中に溶解させる。必須の補助物質は、緩衝剤、錯生成剤、安定剤及び阻害剤である。静脈内及び皮下使用のために生理学的に最適な範囲の設定に適する緩衝剤は、特に、グリココール、クエン酸ナトリウム、リン酸二水素カリウム、リン酸一水素ナトリウム、炭酸塩及びアミノ酸の塩、並びにリンゴ酸、マレイン酸、フマル酸、酒石酸及びアスパラギン酸のナトリウム及びカリウム塩、及びこれら物質の組み合わせである。緩衝剤は、約1~約100ミリモル/l溶液の濃度で使用する。活性物質をその溶液に添加し最終容量に合わせて攪拌する。該パッチ溶液を0.2 µmの気孔サイズを有するメンブランフィルターで濾過して滅菌する。このようにして得られた溶液を0.5 mlの小容量で無菌条件下で注射ビンに小分けし、続いて凍結乾燥装置内で乾燥する。

上記の製剤は、即注射可能な溶液としても安定である。それらの製造においては、得られる溶液は凍結乾燥されていないので、例えば、容積当たり1 mlの容量でアンプル又は注射ビンの中に直接小分けする。

ヒトタンパク質を含有する医薬投与形態を製造するために通常

の医薬補助物質又は添加剤を使用する。塩基性アミノ酸であるアルギニン、リシン又はオルニチンの如き安定剤又は可溶化剤も添加することができる。グリシン、ロイシン、イソロイシン、スレオニン、グルタミン、グルタミン酸、アミノ酢酸、フェニルアラニン並びにヨーロッパ特許出願 EP 0 430 200 及び EP 0 306 824 に挙げられた更なるアミノ酸も、に該タンパク質を安定化又は可溶化するのに役立つアミノ酸として使用され、加えて緩衝物質としても使用することができる。投与形態は、凍結乾燥体として又は即使用可能な注入若しくは注射溶液としても販売することができる。

本発明による注射溶液を保存処理する場合、製剤が一回投薬容器のためのものか複数回投薬容器のためのものか区別しなければならない。

医薬分野において通常使用される保存剤はヒトタンパク質と反応してそれらを不活性にするので、静脈内及び皮下投与用製剤は、保存剤を使用する本発明の方法を用いずに、無菌条件下で一回投薬製剤として製造されることが多い。しかしながら、充填工程中に製剤の中に微生物が入るのを避けることが常に可能であるとは限らない。微生物が入ると、保存剤の添加によりそれらの成長が阻害されないか又はそれらが殺されないなら、被害のもとになり得る。保存剤がヒトタンパク質を不活性化するのを防ぐか又は投与したときにアレルギーを起こすのを防ぐために、本発明に従い、製剤を貯蔵する前に溶液の凍結乾燥の間に除かれる保存剤、即ち、蒸発又は昇華される保存剤を一回投薬製剤の場合に使用する。かかる保存剤は、例えば、クロレトン、ベンジルアルコール、p-

クロロ-m-クレゾール及びピロ炭酸ジエチルであり、それらのうち最初のもの及び後者を用いるのが好ましい。使用可能な濃度は、0.1~約2.0%、好ましくは0.1~約0.3%である。正確な濃度は活性物質の濃度に依存し、当業者に周知の方法によりその場で決定される。

静脈内及び皮下投与用の複数回投薬容器内の製剤は適切に保存処理されていなくてはならない、即ち、規定された貯蔵期間の最終日でさえも、保存作用は依然として十分な程度でなければならないという法的要件がある。この要件を満たすためには、注射可能な形態にあるヒトタンパク質溶液は保存剤を含有しなければならない。これは、上で述べたように保存剤がヒトタンパク質と反応して患者において免疫感作を誘発するので問題を起す。活性物質との反応は、一方では活性物質の活性の減少をもたらす、他方では保存作用の減少をもたらす。この保存作用は、ゴム製ストッパーへの保存剤の吸収により更に減少する。

本発明によれば、全くと言っていいほどヒトタンパク質と反応せずかつ免疫感作作用を殆ど有さない保存剤を使用し、ヒトタンパク質と保存剤との起こり得る接触を最も短くしようと努め、そして保存剤の消費に寄与する要因を排除することによって、これら問題を克服する。

反応性及び免疫感作がより少ない保存剤の例は、クロロブタノール、ベンジルアルコール、塩化ベンザルコニウム及びこれら物質の組み合わせである。これら保存剤を別々に使用するときは、次の濃度を採用する：クロロブタノール：2.0~5.0 mg/ml、好ましくは3.0~4.0 mg/ml；ベンジルアルコール：1.0~5.0 mg/ml、好ましくは2.0~3.0 mg/ml；塩化ベンザルコニウム：0.01~0.05 mg/ml、好ましくは0.02~0.03 mg/ml。

別々の保存剤を組み合わせる使用することが特に有利であることが分かった。より良好な保存はこの手法で達成され、ヒトタンパク質との不利な相互作用は最小限になる。単一の保存剤を使用した場合によっては使用したヒトタンパク質に依り、必要な製剤安定性を達成することは可能ではなかった。最高に保存作用を示す濃度で塩化ベンザルコニウムを使用すると、例えば、ヒトタンパク質の不活性化をもたらさし得る。冷蔵温度でヒトタンパク質の集合化をもたらさない濃度でクロロブタノールを使用すると、一定の状況下で保存作用が不十分となり得る。保存に十分な量のベンジルアルコールを使用すると、物理的不適合及び該医薬溶液の凝固化をもたらさし得る。これら欠点は、別々の保存剤を組み合わせることによって回避できる。好ましい組み合わせは、特にベンジルアルコール/塩化ベンザルコニウム、ベンジルアルコール/クロロブタノール又はクロロブタノール/ベンジルアルコール/塩化ベンザルコニウムを含有する溶液である。この場合、好ましくは、クロロブタノールは1.0 mg/mlまで、ベンジルアルコールは1.0 mg/mlまで、そして塩化ベンザルコニウムは0.1 mg/mlまで、特に0.01~0.05 mg/mlの濃度で使用する。ベンジルアルコールと塩化ベンザルコニウムを組み合わせる使用するのが特に有利であり、この場合、医薬溶液中におけるベンジルアルコールの濃度は好ましくは3~6 mg/mlであり塩化ベンザルコニウムの濃度は好ましくは0.01~0.025 mg/mlである。

反応性が低かつ免疫感作の程度が低い保存剤を使用すること

及び接触時間の短縮は、ヒトタンパク質を不活性化したときの保存剤の分解を最小限にするので、既に保存剤の必要量を少なくするに役立っている。

所望により保存剤を凍結乾燥中に除去した後の凍結乾燥体型又は濃縮液型（上記を参照）の製剤を無菌条件下で貯蔵し、その注射型を調製するまで保存剤を添加しないことで、起こり得る接触の期間を確実に最短にすることができる。なお、それによって該注射溶液を30日以内に消費しなければならない。

凍結乾燥体を選ぶ場合は、該医薬包装単位は更に更に必要な溶媒を含んでもよい。一般に、これらは、混合することによって本発明による特性を有する注射溶液が得られるよう、対応する凍結乾燥体に適合したものである。該凍結乾燥体は、本質的に注射用蒸留水で戻せるように既に必要量の保存剤を全体的に又は部分的に含有することができる。一方、一般原則として、保存処理された注射可能な医薬溶液を得るために、該戻し溶液に必要な量の保存剤を含有させることも可能である。複数回投薬製剤の場合にはこれは好ましい態様である。

医薬包装単位の製造においては、その注入又は注射溶液により十分に許容されかつ痛みのない投与が可能になる旨の説明を特に含む包装折り込みと共に投与の形態を規定するのが普通である。

本発明による複数回投薬容器のためのヒトタンパク質溶液及びそれらの製造をより詳しく説明するために以下の実施例を用いる。問題の溶液は、ヒトタンパク質としてEPO又はG-CSFを含む溶液である。しかしながら、他のヒトタンパク質も同じようにして使用することができる。製造した製剤は、約+4~約+8℃

特表平6-510031 (7)

で冷蔵庫中に貯蔵した場合に数年間安定なままの凍結乾燥体として又は液体製剤として存在する。

実施例1: EPO2000ユニット注射乾燥物質(35,000ピンのバッチ)

以下の補助物質を攪拌器を装備した無菌100ℓV2A二重ジャケットタンク内で溶解させた。

| | | | |
|------------------------------------|--------|--------|--------|
| 尿素 | 700.0g | 70.0g | 0g |
| 塩化ナトリウム | 70.0g | 70.0g | 70.0g |
| ツィーン20 | 7.0g | 7.0g | 7.0g |
| クロレトン | 70.0g | 70.0g | 70.0g |
| リン酸二水素ナトリウム・ H ₂ O | 38.4g | 38.4g | 38.4g |
| リン酸一水素二ナトリウム・ 2H ₂ O | 350.0g | 350.0g | 350.0g |
| 塩化カルシウム・2H ₂ O | 8.4g | 0.42g | — |
| グリシン | 105.0g | 105.0g | 105.0g |
| L-ロイシン | 140.0g | 140.0g | 140.0g |
| L-イソロイシン | 140.0g | 140.0g | 140.0g |
| L-スレオニン | 35.0g | 35.0g | 35.0g |
| L-グルタミン酸 | 35.0g | 35.0g | 35.0g |
| L-フェニルアラニン | 70.0g | 70.0g | 70.0g |
| 注射用水を加えて | 70.0ℓ | 70.0ℓ | 70.0ℓ |

実施例2: EPO凍結乾燥体1000ユニット(35,000ピンのバッチ)

成分:

| | | | |
|------------------------------------|---------------------|---------|---------|
| エリトロポエチン | 233.33 ㎖=3,500万ユニット | | |
| 塩化ナトリウム | 100.0g | 100.0g | 100.0g |
| ツィーン20 | 12.0g | 12.0g | 12.0g |
| ピロ炭酸ジエチル | 210.0g | 210.0g | 210.0g |
| リン酸二水素ナトリウム・ H ₂ O | 140.0g | 140.0g | 140.0g |
| リン酸一水素二ナトリウム・ 2H ₂ O | 50.0g | 50.0g | 50.0g |
| 塩化カルシウム・2H ₂ O | 10.0g | 0.5g | — |
| 尿素 | 700.0g | 0.0g | 0.0g |
| グリシン | 1050.0g | 1050.0g | 1050.0g |
| L-ロイシン | 92.0g | 92.0g | 92.0g |
| グルタミン酸 | 103.0g | 103.0g | 103.0g |
| フェニルアラニン | 115.5g | 115.5g | 115.5g |
| 注射用水を加えて | 70.0ℓ | 70.0ℓ | 70.0ℓ |

該補助物質を70ℓの注射用水に溶解させてから、3.5ℓずつに2分割する。必要量のEPO活性物質を1番目の3.5ℓに添加する。2番目の3.5ℓは濾過システムを濯ぎ洗いののに用いる。該バッチ溶液を0.2μm気孔サイズのメンブランフィルターでの濾過により滅菌する。該滅菌濾過溶液を無菌条件下で1㎖の小容量で注射ビンの中に小分けして実施例1と同じ基準で凍結乾燥す

140,000ユニット/1㎖のEPO力価を有する214.3㎖のエリトロポエチン粗原料バッチを30ℓのこの補助物質溶液に添加し、次いで35ℓの最終容量に合わせて攪拌する。濾過システムを洗いの補助物質溶液で濯ぎ洗いのする。該バッチ溶液を0.2μm気孔サイズのメンブランフィルターでの濾過により滅菌する。該滅菌濾過溶液を無菌条件下で1㎖の小容量で注射ビンの中に小分けし、凍結乾燥装置の中で凍結乾燥する。

この実施例に記載した製剤は、凍結乾燥体としてのみならず注射溶液として貯蔵した場合でも安定である。

(本頁以下余白)

る。その間にピロ炭酸ジエチルは蒸発する。このようにして白色の多孔性凍結乾燥体を得る。これは2ℓの水に容易に溶解し、活性を大きく低下させることなく冷蔵庫中で3年間又は室温で1年間貯蔵することができる。

G-CSF及びrPA溶液も、例えば、同じようにして製造することができるが、溶液成分の溶解及び滅菌濾過は異なる通りながら行う。

(本頁以下余白)

実施例 3: EPO凍結乾燥体5000U及び10,000U

| 成分: | 5000U | 10,000U |
|-------------------------------|----------|----------|
| エリトロポエチン | 5000U | 10,000U |
| 塩化カルシウム・2H ₂ O | 0.151mg | 0.302mg |
| 塩化ナトリウム | 2.500mg | 5.000mg |
| ポリソルベート20 | 0.250mg | 2.500mg |
| リン酸二水素ナトリウム・H ₂ O | 1.190mg | 2.380mg |
| リン酸一水素ナトリウム・2H ₂ O | 9.985mg | 19.930mg |
| アミノ酢酸 | 37.500mg | 75.000mg |
| L-ロイシン | 5.000mg | 10.000mg |
| L-イソロイシン | 5.000mg | 10.000mg |
| L-スレオニン | 1.250mg | 2.500mg |
| L-グルタミン酸 | 1.250mg | 2.500mg |
| L-フェニルアラニン | 2.500mg | 2.500mg |
| 注射用水を加えて | 2.14- | 4.18- |
| | 5.35ml | 10.70ml |

凍結乾燥前にこの溶液を1mlビンではなく0.5mlビンに分配したこと以外は、実施例1に記載した操作と同じようにして凍結乾燥体の製造を行う。

使用前に、保存剤つまり5.0mgクロロブタノールを含有する十分に許容性のある戻し溶液でこれら凍結乾燥体を溶解し、注射用水を加えて1.0mlにする。一方、塩化ベンザルコニウム(約0.01~0.05mg/ml)を加えたベンジルアルコール(約4~5mg/ml)の溶液を使用することもできる。

実施例 5: オリゴマーの形成

オリゴマーを形成する傾向に関してrh-EPO含有医薬製剤を調べた。このために、先行技術から既知である製剤を本発明による製剤と比較した。該医薬製剤を種々の温度で長期間凍結乾燥体として貯蔵してから蒸留水で戻した。該製剤中のオリゴマーのパーセント比率をウェスタンブロット法により測定した。ヒト血清アルブミンとクエン酸塩を含有する製剤の場合には製造業者によって18%、8%及び3%量の集合体が見られたのに反して、本発明による方法で製造した溶液には事実上集合体はなかった。

(本頁以下余白)

実施例 4: 即注射可能なEPO溶液

| 成分: | 1000U /727h | 2000U /727h | 5000U /727h | 10,000U /727h |
|--|----------------|----------------|----------------|------------------|
| EPO | 1000U | 2000U | 5000U | 10,000U |
| 炭素 | 5.00mg | 5.00mg | 5.00mg | 5.00mg |
| ポリソルベート20 | 0.10mg | 0.10mg | 0.10mg | 0.10mg |
| NaCl | 0.50mg | 0.60mg | 0.60mg | 0.60mg |
| NaH ₂ PO ₄ ・2H ₂ O | 0.31mg | 0.62mg | 0.62mg | 0.62mg |
| Na ₂ HPO ₄ ・12H ₂ O | 5.03mg | 10.06mg | 10.06mg | 10.06mg |
| CaCl ₂ ・2H ₂ O | 0.04mg | 0.08mg | 0.08mg | 0.08mg |
| アミノ酢酸 | 7.50mg | 15.00mg | 15.00mg | 15.00mg |
| L-グルタミン酸 | 0.25mg | 0.50mg | 0.50mg | 0.50mg |
| L-イソロイシン | 1.00mg | 2.00mg | 2.00mg | 2.00mg |
| L-ロイシン | 1.00mg | 2.00mg | 2.00mg | 2.00mg |
| L-フェニルアラニン | 0.50mg | 1.00mg | 1.00mg | 1.00mg |
| L-スレオニン | 0.25mg | 0.50mg | 0.50mg | 0.50mg |
| 注射用水を加えて | 1ml | 1ml | 1ml | 1ml |

製造方法は、得られた溶液を凍結乾燥しないでアンプル又は注射ビンに容器当たり0.5mlの量で直接小分けすることだけが実施例3で用いた製造方法と異なる。

使用前に、保存処理した十分に許容性のある次の組成の溶液0.5ml又は1.0mlでこれら注射溶液を希釈する: 5.0mgベンジルアルコール; 1.0mlにするための注射用水。一方、塩化ベンザルコニウム(約0.01~0.05mg/ml)を加えたベンジルアルコール(約4~5mg/ml)の溶液を使用することもできる。

実施例 6: pH2.5のrhG-CSF溶液

| | |
|------------|------------|
| rhG-CSF | 0.175mg |
| 塩化ナトリウム | 1.500mg |
| ポリソルベート80 | 0.050mg |
| アミノ酢酸 | 5.750mg |
| 分析品質 | |
| L-ロイシン | 0.500mg |
| L-イソロイシン | 0.500mg |
| L-スレオニン | 0.125mg |
| L-グルタミン酸 | 0.125mg |
| L-フェニルアラニン | 0.250mg |
| 0.1モルHCl | 0.000mg |
| 注射用水 | +493.025mg |

0.5mlの注射用水中に戻した溶液のpH値: 2.5

使用前に、保存処理した十分に許容性のある次の組成の溶液0.5ml又は1.0mlでこれら注射溶液を希釈する: 5.0mgベンジルアルコール; 1.0mlにするための注射用水。一方、塩化ベンザルコニウム(約0.01~0.05mg/ml)を加えたベンジルアルコール(約4~5mg/ml)の溶液を使用することもできる。

(本頁以下余白)

特表平6-510031 (9)

実施例 7 : pH4.5 の G-CSF 製剤

| | |
|---------------------|------------|
| rhG-CSF | 0.175mg |
| 塩化ナトリウム | 1.500mg |
| ポリソルベート 80 | 0.050mg |
| アミノ酢酸 | 8.550mg |
| 分析品質 | |
| L-ロイシン | 0.500mg |
| L-イソロイシン | 0.500mg |
| L-スレオニン | 0.125mg |
| L-グルタミン酸 | 0.125mg |
| L-フェニルアラニン | 0.250mg |
| 0.1モルNaOHを加えてpH4.5に | 0.000mg |
| 注射用水 | +492.225mg |

0.5mlの注射用水中に戻した溶液のpH値: 4.5。使用前に、保存処理した十分に許容性のある次の組成の溶液0.5ml又は1.0mlでこれら注射溶液を希釈する: 5.0mgベンジルアルコール、1.0mlにするための注射用水。一方、塩化ベンザルコニウム (約0.01~0.05mg/ml) を加えたベンジルアルコール (約4~5mg/ml) の溶液を使用することもできる。

緩衝能: 3.0ミリモル/l NaOH (30ml 0.1規定NaOH)
 滴定酸度: 5.0ミリモル/l NaOH (50ml 0.1規定NaOH)

(本頁以下余白)

実施例 8 : pH値3.8~4.0 の G-CSF 製剤

| | |
|------------------------|------------|
| rhG-CSF | 0.175mg |
| 塩化ナトリウム | 1.500mg |
| ポリソルベート 80 | 0.050mg |
| アミノ酢酸 | 5.750mg |
| 分析品質 | |
| L-ロイシン | 0.500mg |
| L-イソロイシン | 0.500mg |
| L-スレオニン | 0.125mg |
| L-グルタミン酸 | 0.125mg |
| L-フェニルアラニン | 0.250mg |
| 0.1モルHClを加えてpH3.8~4.0に | 0.000mg |
| 注射用水 | +493.025mg |

0.5mlの注射用水中に戻した溶液のpH値: 3.9。使用前に、保存処理した十分に許容性のある次の組成の溶液0.5ml又は1.0mlでこれら注射溶液を希釈する: 5.0mgベンジルアルコール、1.0mlにするための注射用水。一方、塩化ベンザルコニウム (約0.01~0.05mg/ml) を加えたベンジルアルコール (約4~5mg/ml) の溶液を使用することもできる。

緩衝能: 5.8ミリモル/l NaOH (58ml 0.1規定NaOH)
 滴定酸度: 10ミリモル/l NaOH (100ml 0.1規定NaOH)

実施例 9 : pH値4 の G-CSF 製剤

| | | | |
|---------------------------------------|------------|------------|------------|
| rhG-CSF | 0.175mg | 0.175mg | 0.175mg |
| 尿素 | 2.500mg | 0.250mg | 0.000mg |
| 塩化ナトリウム | 1.500mg | 1.500mg | 1.500mg |
| ポリソルベート 80 | 0.050mg | 0.050mg | 0.050mg |
| アミノ酢酸 | 3.750mg | 5.550mg | 5.750mg |
| 分析的に純粋 | | | |
| L-ロイシン | 0.500mg | 0.500mg | 0.500mg |
| L-イソロイシン | 0.500mg | 0.500mg | 0.500mg |
| L-スレオニン | 0.125mg | 0.125mg | 0.125mg |
| L-グルタミン酸 | 0.125mg | 0.125mg | 0.125mg |
| L-フェニルアラニン | 0.250mg | 0.250mg | 0.250mg |
| 注射用水 | +492.525mg | +492.875mg | +493.025mg |
| 0.5mlの注射用水中に溶解させた凍結乾燥体のpH値 | 4.0 | 4.0 | 4.0 |
| 緩衝能: 5.8ミリモル/l NaOH (58ml 0.1規定NaOH) | | | |
| 滴定酸度: 10ミリモル/l NaOH (100ml 0.1規定NaOH) | | | |

実施例 1~9 に記載した製剤は、凍結乾燥体としてのみならず注射溶液としても貯蔵に関して安定である。

国際調査報告

International application No.
PCT/EP 92/01622

| | | |
|---|---|---|
| A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER | | |
| IPC 5 A61K37/02; A61K47/10; | A61K47/10; | A61K47/14 |
| According to International Patent Classification (IPC) or to both a national classification and IPC | | |
| B. FIELDS SEARCHED | | |
| Magnetic documents searched (Magnetic documents searched by abstracting agencies) | | |
| IPC 5 A61K | | |
| Documents searched other than magnetic documents to the extent that such documents are referred to in the fields searched | | |
| Documents that have been discarded during the international search (name of the base and, where possible, name of the search) | | |
| C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
| Category | Character of document, with indication, where appropriate, of the relevant passage | Reference to drawing No. |
| X | EP.A.0 058 903 (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH) 1 September 1992 | 1-3, 5-7, 9, 10, 14-16 4, 6 11-12 |
| Y | see page 6, line 23 - page 7, line 2 see page 10; example 3 see claims | |
| Y | EP.A.0 306 824 (BOEHRINGER MANNHEIM GMBH) 15 March 1989 cited in the application see page 2, line 1 - line 3 see page 3, line 4 - line 8 see page 4; example 1 see claims | 4, 6, 11-12 |
| Further documents are listed in the continuation of Part C. | | |
| See patent family name. | | |
| <p>*A* Special categories of other documents:</p> <p>*B* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> <p>*C* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> <p>*D* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> <p>*E* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> <p>*F* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> <p>*G* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> <p>*H* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> <p>*I* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> <p>*J* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> <p>*K* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> <p>*L* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> <p>*M* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> <p>*N* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> <p>*O* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> <p>*P* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> <p>*Q* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> <p>*R* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> <p>*S* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> <p>*T* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> <p>*U* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> <p>*V* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> <p>*W* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> <p>*X* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> <p>*Y* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> <p>*Z* Documents defining the prior art of the invention or an amendment to it.</p> | | |
| Date of the latest application of the international search | | |
| 15 November 1992 (16.11.92) | | |
| Date of mailing of the international search report | | |
| 01 December 1992 (01.12.92) | | |
| Name and printing address of the ISA/ | | |
| EUROPEAN PATENT OFFICE | | |
| Postoffice No. | | |
| Telephone No. | | |

国際調査報告

International application No.
PCT/EP 92/01822

| C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT | | |
|---|--|------------------------|
| Category | Change of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages | Reference to state No. |
| A | GB-A-2 177 914 (CHUGAI SEIYAKU KABUSHIKI KAISHA) 4 February 1987 see page 4; example 7 see claims 1-2 | 1-16 |
| A | ROTH H.J. ET AL "Hagers handbuch der pharmazeutischen Praxis" 1971, published by SPRINGER, BERLIN-HEIDELBERG-NEW YORK Vol. VII see page 429 - page 432 see page 448 Vol. VIIb see page 317 - page 321 | 1-16 |

Form PCT/ISAQ10 (continuation of annex sheet) (July 1992)

国際調査報告

EP 9201822
SA
62960

This report lists the patent family members relating to the patent document cited in the above-mentioned international search report. The members are not entered in the European Patent Office EPO file as the European Patent Office is in no way liable for their particularity which are merely given for the purpose of information. 16/11/92

| Patent document cited in search report | Publication date | Patent family member(s) | Publication date |
|--|------------------|---|--|
| EP-A-0056903 | 01-09-82 | DE-A- 3108573 JP-A- 57189486 | 19-08-82 01-10-82 |
| EP-A-0106826 | 15-03-89 | DE-A- 3729863 AU-A- 2173888 DE-A- 3872334 JP-A- 1071918 US-A- 4992419 | 16-03-89 27-04-89 30-07-92 16-03-89 12-02-91 |
| GB-A-2177914 | 04-02-87 | DE-A- 3618561 FR-A, B 2587236 JP-A- 62089827 | 02-01-87 02-03-87 24-04-87 |

For more details about this report, see Official Journal of the European Patent Office, No. 12/92

フロントページの続き

(72)発明者 マークル, ハンス ジェルク
ドイツ連邦共和国 ディー-6701 エラー
スタット アオフ デア クレー 6

(72)発明者 ヴィンター, ゲルハルト
ドイツ連邦共和国 ディー-6915 ドッセ
ンハイム ヤーンシュトラッセ 20イー.
(72)発明者 デムマー, フリッツ
ドイツ連邦共和国 ディー-6945 ヒルシ
ュベルク/ロイターシャオセン, カスタニ
ーンヴェーク 21